

EFFET DES TRAITEMENTS DU SOL SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'EPIDEMIE DE LA POURRITURE BRUNE (*Phytophthora megakarya*) DU CACAOYER AU CAMEROUN.

NDOUNGUE DJEUMEKOP M.M.^{1,2}, TCHANA, T.², NANA, W.^{2,3}, TECHOU, Z.², PETCHAYO, S.^{2,3}, FONTEM, A.D.¹, TEN HOOPEN, G.M.^{2,4,*}

¹ Université de Dschang, Faculté d'Agronomie, BP 208 Dschang, Cameroun.

² IRAD, Laboratoire de Phytopathologie, BP 2067, Yaoundé, Cameroun

³ Université de Yaoundé 1, Faculté des Sciences, BP 812 Yaoundé, Cameroun

⁴ CIRAD, UPR Bioagresseurs analyse et maîtrise du risque, F-34398 Montpellier, France

* Auteur pour correspondance : tenhoopen@cirad.fr

RESUME

La pourriture brune causée par *Phytophthora* spp. est responsable des pertes de l'ordre de 30% au niveau mondial. Au Cameroun, l'espèce *Phytophthora megakarya* est la seule responsable de cette maladie et les pertes peuvent atteindre 100% si aucune mesure de contrôle n'est prise. En général, on considère que l'inoculum primaire qui initie l'épidémie provient du sol. De nombreuses études ont porté sur le contrôle des symptômes visibles de la maladie (les cabosses infectées) en utilisant différentes méthodes de lutte: culturale, chimique, génétique ou biologique. Néanmoins, très peu d'études se sont intéressées au contrôle de l'inoculum primaire pour voir comment ces types d'interventions pourraient aider à la gestion de cette maladie. Par conséquent, l'objectif de ce travail était de voir si c'est possible d'intervenir au niveau du démarrage de l'épidémie en effectuant un contrôle sur l'inoculum primaire. Un essai en champ a été conduit sur deux années consécutives (2010-2011). Des applications de Ridomil et *Trichoderma asperellum* PR11 ont été effectuées en absence ou en présence de litière sur des parcelles de 16 arbres chacune. Des traitements avec l'eau ont été utilisés comme témoin. Chaque traitement a été répété trois fois. Les applications d'eau, de Ridomil et de *T. asperellum* étaient faites mensuellement tandis que les observations hebdomadaires ont porté sur les fruits sains et malades. Les cabosses malades et mûres étaient enlevées de l'arbre. Une évaluation des traitements sur la présence des antagonistes fongiques de *P. megakarya* présent dans le sol a également été faite. Les résultats ont montrés que *Trichoderma* peut avoir un effet positif sur la réduction du taux de pourriture de presque 30% comparativement au contrôle avec l'eau. Cet effet était plus évident quand *Trichoderma* était appliqué sur terre nue. Les parcelles témoins ont montrées une plus grande diversité d'antagonistes de *P. megakarya* comparativement aux parcelles traitées. *Trichoderma* était le plus abondant dans le sol des parcelles traitées avec *T. asperellum* PR11 alors que *Clonostachys* était omniprésent. Les implications de ces résultats pour l'amélioration de la lutte contre *P. megakarya* sont discutées.

INTRODUCTION

La pourriture brune des fruits du cacaoyer au Cameroun est due au *Phytophthora megakarya* l'agent pathogène le plus agressif parmi les espèces de *Phytophthora* qui infectent le cacaoyer.

Il est difficile de lutter contre *P. megakarya* outre qu'en protégeant les cabosses avec des produits chimiques. Récemment des travaux menés au Cameroun ont montré que des souches de *Trichoderma asperellum* sont de bons antagonistes de *P. megakarya*. La souche de *T. asperellum* PR11 a présenté une très bonne action antagoniste sur *P. megakarya* (Tondje *et al.*, 2007 ; Deberdt *et al.*, 2008).

Le sol est le principal réservoir de l'inoculum primaire de *P. megakarya*. En général la maladie se déclenche dès l'arrivée des pluies, grâce à un effet splash, qui fait que l'inoculum primaire atteigne les cabosses les plus proches du sol (Mfegue 2012). Malgré de nombreuses études faites sur le contrôle de la pourriture brune au Cameroun, très peu se sont intéressées à la contribution de l'inoculum primaire dans l'incidence et l'évolution de la maladie. Les travaux de Konam et Guest (2002) menés dans des cacaoyères en Papouasie Nouvelle Guinée ont révélé que le paillage ou la litière stimule l'activité des microorganismes antagonistes de *P. palmivora*. Le paillage peut également réduire l'effet splash et constituer par la même occasion une barrière physique pour l'inoculum primaire présent dans le sol.

L'objectif de ce travail était de voir si des traitements dirigés vers le sol avec un agent de lutte biologique ou un fongicide pourraient avoir un impact sur l'inoculum primaire et le déroulement de l'épidémie et ensuite d'examiner l'impact de la litière sur le déroulement de l'épidémie.

MATERIELS ET METHODES

Site expérimental

L'essai était conduit sur deux années successives (2010-2011) à Leboudi, dans la région du Centre-Cameroun. La plantation cacaoyère avait une superficie d'environ 2.5 ha et était âgée d'au moins 20 ans. En plus des cacaoyers quelques essences végétales étaient présentes, principalement des fruitiers comme les agrumes, palmiers, manguiers et safoutiers.

Dispositif expérimental

Un dispositif en blocs aléatoires complets a été utilisé. Trois blocs renfermaient chacun 6 parcelles expérimentales de 16 arbres chacune. Des applications d'eau, Ridomil et *T. asperellum* PR11 ont été effectués au niveau du sol dans les parcelles avec ou sans litière, ceci une fois par mois pendant les périodes de Mars à Décembre 2010 et de Mai à Novembre. Les combinaisons applications/litière donnent 6 traitements (Tableau 1) répétée trois fois (n=18 parcelles expérimentales).

Tableau 1 : Traitements et leur code.

Code	Traitements	Litière	Concentration
EL ⁺	Eau	Présence	-
EL ⁻	Eau	Absence	-
TL ⁺	<i>T. asperellum</i> PR11	Présence	2.1 * 10 ¹² spores/ha
TL ⁻	<i>T. asperellum</i> PR11	Absence	2,1 * 10 ¹² spores par/ha
RL ⁺	Ridomil Plus	Présence	0,7kg/ha de poudre commerciale
RL ⁻	Ridomil Plus	Absence	0,7kg/ha de poudre commerciale

Traitements et collecte des données en champs

Les applications (Tableau 1) dirigées au sol, couvraient un cercle d'environ un mètre de rayon à partir du tronc des arbres. La collecte hebdomadaire des données se faisait entre Mars et Décembre 2010 et Mai et Novembre 2011. Les données prélevées portaient sur le nombre de fruits pourris, sains non mûrs et sains mûrs. Chaque semaine les cabosses saines mûres et pourries étaient enlevées des arbres.

Echantillons du sol.

Trois échantillons de sol ont été prélevés par parcelle expérimentale; une fois au début (Mai 2011) et une fois vers la fin (Novembre 2011) de la campagne. Ces échantillons ont servi à la quantification de l'inoculum et au piégeage des antagonistes de *P. megakarya* présents dans le sol. L'isolement du pathogène s'est fait par piégeage à l'aide des cabosses détachées. Les cabosses développant les symptômes de la pourriture brune ont permis d'isoler et de purifier l'agent pathogène pour confirmer la présence de *P. megakarya*.

Antagonistes fongiques

L'isolement des antagonistes fongiques de *P. megakarya* présents dans le sol a été faite suivant la méthode de boîte précolonisée de Krauss *et al.* (1998) et Garcia *et al.* (2005) légèrement modifiée. Les antagonistes présents dans les boîtes de pétries ont été isolés, purifiés et enfin identifiés sur la base des caractéristiques morphologiques.

Analyse des données

Les données traduisant le nombre de cabosses pourries, mûres et le taux de pourriture ont été analysées en utilisant le modèle linéaire généralisé (Proc GLM) avec le logiciel SAS (Statistical Analysis System; version 9,2). Le test de comparaison multiple des moyennes de Duncan a été utilisé pour classer les différents traitements. Les taux d'infection de cabosses par *P. megakarya* et les taux de colonisation des boîtes de pétries pré-colonisées par des antagonistes ont été analysées à l'aide du test non paramétrique de William Gemmell Cochran (Cochran's Q test) au seuil de signification de 5%.

RESULTATS

Pour les deux années, il n'y avait pas d'effets significatifs ($P=0,6228$) des traitements sur la quantité de cabosses pourries, non plus pour les taux de pourriture ($P= 0,1928$). Il y avait une différence significative ($P= 0.0070$) pour la quantité de cabosses mûres mais seulement entre les années (plus de cabosses mûres en 2010 qu'en 2011). En regardant néanmoins le taux de pourriture on constate que comparativement au témoin (avec l'eau) PR11 en absence de la litière peut réduire de 30 % le taux de pourriture.

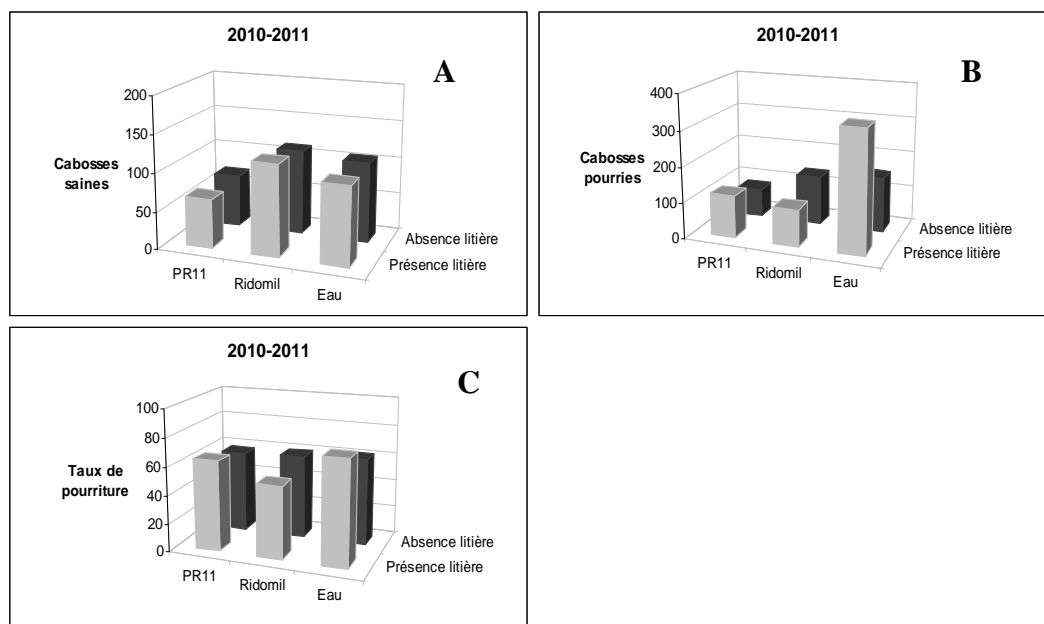


Figure 1. Quantité de cabosses saines (A) cabosses pourries (B) et taux de pourriture (C).

Les résultats obtenus à partir des échantillons de sol collectés au début de la campagne (Mai 2011) ont montré que les parcelles avaient une même quantité d'inoculum primaire de *P. megakarya* (Figure 2A). Par contre, en fin de campagne on note que les applications de *Trichoderma* et de Ridomil plus ont réduit de manière significative ($P<0.05$) la présence de l'inoculum dans le sol comparativement au témoin (Figure 2B).

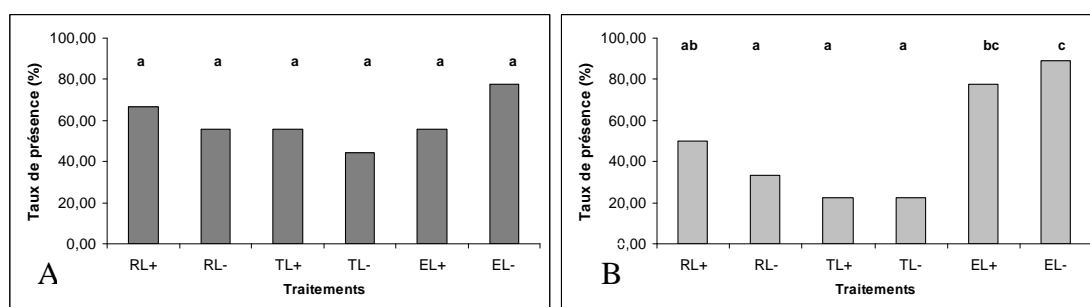


Figure 2. Pourcentage d'échantillons de terre testé positif à la présence de *P. megakarya* au début (A) et à la fin (B) de l'essai en 2011. Au sein d'un même graphe, les barres ayant la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P<0.05$.

Tableau 2 : Pourcentage d'échantillons de terre (%) présentant la récurrence des antagonistes de *P. megakarya* provenant du sol en Mai 2011

Traitements	TL ⁺	TL ⁻	RL ⁺	RL ⁻	EL ⁺	EL ⁻
Mycoparasite						
<i>T. cf asperellum</i>	93,0b	93,0b	4,0a	11,0a	33,0a	19,0a
<i>T. cf virens</i>	0,0a	0,0a	4,0a	0,0a	4,0a	15,0a
<i>Trichoderma</i> sp.	0,0a	4,0a	0,0a	7,0a	4,0a	7,0a
<i>Penicillium</i>	19,0a	7,0a	22,0a	15,0a	30,0a	44,0a
<i>Fusarium</i>	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	4,0a
<i>Clonostachys</i>	63,0a	37,0a	81,0a	56,0a	81,0a	70,0a

Les chiffres d'une ligne suivis de la même lettre ne sont pas significativement différents.

Légende : R=Ridomil, T= *T. asperellum* PR11, E= eau, L⁺=Présence litière, L⁻=Absence litière

Les résultats relatifs au piégeage des antagonistes de *P. megakarya* présent dans le sol ont révélé la présence des espèces du genre *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Clonostachys*. A travers les échantillons de sol collectés en Mai 2011 (début de campagne, Tableau 2), on a remarqué que *T. asperellum* était plus présent dans les parcelles des traitements TL⁺ et TL⁻ que dans les autres. Le genre *Clonostachys* était le plus régulier dans toutes les parcelles, contrairement à celui de *Fusarium* qui n'était

présent que dans les parcelles traitées à l'eau en absence de la litière. Toutefois, les parcelles traitées à l'eau de manière générale ont présentées une plus grande diversité en nombre d'antagonistes présents comparativement à des parcelles traitées avec *Trichoderma* ou Ridomil (Tableau 2). Des résultats similaires ont été obtenus en Novembre 2011 (Tableau 3) avec quelques différences. La récurrence des espèces du genre *Clonostachys* a augmenté dans les parcelles traitées à l'eau. Comparativement à Mai, la diversité d'antagonistes a diminué dans les parcelles traitées avec *Trichoderma* ou Ridomil contrairement à celles de l'eau.

Tableau 3 : Pourcentage d'échantillons de terre (%) présentant la récurrence des antagonistes de *P. megakarya* provenant du sol en Novembre 2011

Traitement Mycoparasite	TL ⁺	TL ⁻	RL ⁺	RL ⁻	EL ⁺	EL ⁻
<i>T. cf asperellum</i>	94,0b	85,0b	0,0a	0,0a	0,0a	7,0a
<i>T1 cf virens</i>	0,0a	7,0a	0,0a	0,0a	7,0a	15,0a
<i>Trichoderma sp.</i>	4,0a	7,0a	0,0a	0,0a	7,0a	11,0a
<i>Penicillium</i>	0,0a	0,0a	4,0a	0,0a	15,0a	19,0a
<i>Fusarium</i>	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	7,0a	4,0a
<i>Clonostachys</i>	56,0a	19,0a	37,0a	52,0a	100,0 ^b	78,0b

Les chiffres d'une ligne suivis de la même lettre ne sont pas significativement différents.

Légende : R=Ridomil, T= *T. asperellum* PR11, E= eau, L⁺=Présence litière, L⁻=Absence litière

DISCUSSION

Les traitements avec Ridomil ou *T. asperellum* PR11 ont réduit, mais de manière non significative, la pourriture comparativement aux parcelles témoins. Ceci serait dû au fait que la pourriture brune du cacaoyer est une maladie polycyclique, donc l'intervention au niveau de la source de l'inoculum primaire et la récolte hebdomadaire des fruits pourris n'ont pas pu empêcher la propagation de la maladie. Le taux élevé de pourriture dans les parcelles témoins en présence de la litière pourrait s'expliquer par le fait que la litière, loin de constituer une barrière comme démontré par Konam et Guest (2002), serait également une source de nutriments pour le pathogène ce qui favoriserait sa multiplication.

Certains traitements ont eu un effet significatif sur la quantité d'inoculum primaire de *P. megakarya* dans le sol. La réduction de l'inoculum primaire dans les parcelles traitées avec *T. asperellum* PR11, s'expliquerait par la facilité qu'a ce dernier à s'installer dans le sol, à sa nature agressive et compétitive (Ten Hoopen, 2007), et par conséquent grâce à son pouvoir antagoniste à parasiter l'inoculum présent. Le Ridomil a également réduit l'inoculum primaire de *P. megakarya* probablement à cause de son contact direct avec le pathogène.

Les antagonistes de *P. megakarya* du genre *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Clonostachys* retrouvés dans les parcelles sont généralement présent dans la microflore du sol (Garcia *et al.*, 2005 ; Ten Hoopen, 2007). La prépondérance de *T. asperellum* PR11 dans les parcelles TL⁺ et TL⁻ en Mai 2011 pourrait s'expliquer par le fait des applications de PR11 dans les parcelles en 2010. Le fait que *Clonostachys* soit moins récurrent en novembre 2011 dans les parcelles TL⁺ et TL⁻ pourrait être dû à une compétition entre cet antagoniste et PR11. La nature toxique du cuivre présent dans le Ridomil serait responsable de la réduction de la diversité des antagonistes comme le montre les données de Mai à Novembre 2011. Les parcelles témoins (EL⁻ et EL⁺) comparativement aux parcelles du Ridomil et de *T. asperellum* ont présenté la plus grande diversité. Bien que cette diversité d'antagonistes n'ait pas aidée à réduire l'inoculum primaire dans ces parcelles témoins.

Dans cette étude nous avons montré que les applications de Ridomil et de *T. asperellum* PR11 ont réduit la quantité d'inoculum primaire de *P. megakarya* dans le sol, ce qui a résulté aussi en une réduction (non-significative) du taux de pourriture des cabosses. Les travaux de Deberdt *et al.* (2008) ont montré que des applications de *T. asperellum* dirigées vers les cabosses, réduisaient la pourriture brune de manière importante. Toutefois, une combinaison de ces deux approches sur plusieurs années pourrait réduire encore plus les pertes dues à *P. megakarya*.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique (CIRAD) pour les fonds alloués à cette étude et à l'Institut de Recherche Agricole et du Développement (IRAD) pour le support logistique.

REFERENCES

- Deberdt P, Mfegue CV, Tondje PR, Bon MC, Ducamp M, Hurard C, Begoude BAD, Ndoumbe-Nkeng M, Hebbar PK and Cilas C. (2008). Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cocoa pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroun. *Biological Control* **44**, 149-159.
- Drenth A and Guest DI. (2004). Principles of *Phytophthora* Disease management. In: Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia. Drenth A. and Guest D. I. ACIAR Monograph 114.
- García J, George A, Argyle T, Ten Hoopen GM and Krauss U. (2005). Existe la tolerancia genética del cacao (*Theobroma cacao*) a *Rosellinia bunodes* y *Rosellinia pepo*? *Manejo Integrado de Plagas* **75**, 21-31.
- Guest D. (2007). Diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology* **97**: 1650-1653.
- Konam JK and Guest DI. (2002). Leaf litter mulch reduces the survival of *Phytophthora palmivora* under cocoa trees in Papua New Guinea. *Australasian Plant Pathology* **31**, 381-383.
- Krauss U, Bidwell R and Ince J. (1998). Isolation and preliminary evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of crown rot of banana. *Biological control* **13**, 111-119
- Mfegue CV. (2012). Origine et mécanismes de dispersion des populations de *Phytophthora megakarya*, pathogène du cacaoyer au Cameroun. PhD thesis, SupAgro, Montpellier, France, pp. 185
- Ten Hoopen GM. (2007). Monitoring mycoparasites on the fructoplane of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *PhD. Thesis*. Royal Holloway University of London 243p
- Tondje PR, Roberts DP, Bon MC, Widmer T, Samuels GJ, Ismaïel A, Begoude AD, Tchana T, Nyemb-Tshomb E, Ndoumbe-Nkeng M, Bateman R, Fontem D and Hebbar KP. (2007). Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon. *Biological Control* **43**, 202-212